Diyabetik Ratlarda Propofol ve C Vitamini Uygulamasının Karaciğer ve Böbrek Dokusu Üzerindeki Etkisinin Araştırılması

Investigation of Effects of Propofol and Vitamin C Administration on Hepatic and Renal Tissue in Diabetic Rats

Mustafa Arslan[1], Mustafa Bilge[2], Şaban Cem Sezen[3], Levent Öztürk[4], Berrin Işık[1], Faruk Metin Çomu[5], Metin Alkan[1], Mustafa Sancar Ataç[6], Mustafa Kavutcu[2], Derviş Yılmaz[6]

[1]Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anestezyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye
[2]Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye
[3]Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale, Türkiye
[4]Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Anestezyoloji ve Reanimasyon Kliniği, Ankara, Türkiye
[5]Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale, Türkiye
[6] Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

ÖZET

Amaç: Diyabet komplikasyonları ile lipid peroksidasyonu arasında yakın ilişki olduğu bilinmektedir. Diyabetik ratlarda propofol farmako-dinamisi ve farmako-kinetiğinin değiştiği gösterilmiştir. Bu çalışmada diyabetik ratlarda propofol ve C vitaminin karaciğer ve böbrek dokusuna etkisini araştırmayı amaçladık.

Yöntemler: Çalışmada 28 Wistar Albino sıçan kullanıldı. Hayvanlar randomize olarak 4 gruba ayrıldı. Kontrol (K) grubuna sadece intraperitoneal salin verildi. Diyabet oluşturulacak 3 gruptaki hayvanlara ise tek doz streptozotosin verilerek (60 mg/kg) deneysel diyabet oluşturuldu. Diyabet-propofol grubu (DP) için hayvanlara intarperitoneal olarak 150 mg/kg propofol verildi. Diyabet-propofol ve C vitamini (DP+Vit C) verilen gruptaki hayvanlara 150 mg/kg propofol verilmeden 30 dakika önce 100 mg/kg C vitamini verildi. Diyabet Kontrol (DK) grubuna ise diyabet oluşturulduktan sonra sadece intraperitoneal salin verildi. İlaç uygulamadan sonra hayvanlar sakrifiye edilerek karaciğer ve böbrek doku preperatları histolojik ve biyokimyasal değerlendirme için hazırlandı. Antioksidan enzimler süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GST) aktiviteleri ve malondialdehid (MDA) konsantrasyonları karaciğer ve böbrek dokusunda ölçüldü.

Bulgular: Karaciğer MDA düzeyleri; Diyabet kontrol (DK) grubunda DP, DP+Vit C ve K gruplarına göre yüksek bulundu (p=0.024, p=0.008, p=0.016). Kontrol grubu ve DP+ Vit C grubunda karaciğer SOD aktivitesi DK grubundan anlamlı olarak daha düşük bulundu (p=0.011, p=0.038). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DP+ Vit C grubundaki karaciğer GST aktivitesi daha düşük olarak bulundu (p = 0.011). Karaciğer CAT aktivitesi açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı. DK grubundaki böbrek MDA düzeyleri DP+ Vit C ve K grubuna göre daha yüksek olarak bulundu (p=0.016, p=0.010). DK grubundaki böbrek SOD aktivitesi diğer üç gruba göre daha düşük bulundu (p=0.028, p=0.019, p=0.009). Böbrek dokusunda bakılan GST ve CAT aktiviteleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı. DP grubundaki histopatolojik hasarlanma düzeyi kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu.

Sonuç: Diyabet kliniğinde lipid peroksidasyonu artmakta ve antioksidan aktivite azalmaktadır. Bununla birlikte C vitamini uygulaması bu durumdaki lipid peroksidasyonunu azaltırken antioksidan aktiviteyi de artırmaktadır. Çalışmamızın sonuçlarının diğer deneysel çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar Sözcükler: Diyabetes Mellitus, propofol, vitamin C, sıçan, karaciğer, böbrek, antioksidan sistem.

Geliş Tarihi: 17.02.2015 **Kabul Tarihi:** 16.04.2015

ABSTARCT

Obective: A close relationship between diabetic complications and lipid peroxidation is known. It was shown that in diabetic rat pharmacodynamics and pharmacokinetics of propofol was changed. We aim to investigate effects of application propofol and vitamin C on liver and kidney tissue in diabetic rats.

Method: Twenty eight wistar albino rats were randomly divided into 4 study groups. Rats in control group were treated only with saline intra peritonealy. Experimental diabetes was induced with a single dose of streptozotocin (60 mg/kg). In propofol adminastrated diabetic rat group (DP) 150 mg/kg propofol was given intraperitoneally. In both propofol and vitamin C adminastrated rats group (DP+Vit C), 100 mg/kg vitamin C was given before 30 minutes administration of 150 mg/kg propofol. In the diabetic control group (DC) administartion of intraperitoneally saline solution alone to the diabetic rats was achieved. Rats were sacrified and liver and kidney tissue were removed. Liver and renal tissue was obtained for histological and biochemical determination. Antioxidant enzymes SOD, CAT, GST activities and MDA concentration were determined in liver and renal tissue.

Results: Liver MDA levels in group DC was found to be significantly higher than DP, DP+Vit C and C groups (p=0.024, p=0.008, p=0.016). Liver SOD activity in group 3 was found to be significantly lower in groups DP+Vit C and C (p=0.011, p=0.038). Liver GST activity in group DP+Vit C was found to be significantly lower when compared with group C (p = 0.011). Liver CAT activity showed no difference among groups. Renal MDA levels in group DC was found to be significantly higher in groups DP+Vit C and C (p=0.016, p=0.010). Renal SOD activity in DC was found to be significantly lower than groups DP, DP+Vit C and C (p=0.028, p=0.019, p=0.009). Renal GST and CAT activity showed no difference among groups. Histopathalogically group DP was more damaged than in group C.

Conclusion: Diabetes increased lipid peroxidation and reduced the antioxidant activity. However, application of vitamin C reduced lipid peroxidation and increased antioxidant activity. Results of our study have to be supported other experimental studies.

Key Words: Diabetes Mellitus, propofol, vitamin C, rat, liver, kidney, antioxidant system.

Received: 02.17.2015 **Accepted:** 04.16.2015

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Dr. Mustafa Arslan, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anestezyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, 06510 Ankara, Türkiye
Tel: 90 312 202 67 39 (GSM) 90 533 422 85 77 E-posta: mustarslan@gmail.com
©Telif Hakkı 2015 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi - Makale metnine http://medicaljournal.gazi.edu.tr/ web adresinden ulaşılabilir.
©Copyright 2015 by Gazi University Medical Faculty - Available on-line at web site http://medicaljournal.gazi.edu.tr/
doi:http://dx.doi.org/10.12996/gmj.2015.31

GİRİŞ

Diyabetes mellitus (DM) prevelansı son iki-üç dekat içinde dünya genelinde hızla artmış ve gelecek birkaç on yıl içinde DM tanısı olan hasta sayısında %200 oranında bir artış olacağı öngörülmektedir (1–5). Bunun sonucu olarak daha fazla sayıda diyabetik hasta anestezi ve cerrahi girişim adayı olmaktadır. Bu hasta grubunda görülen hipertansiyon, iskemik kalp hastalığı, nefropati ve nöropati gibi önemli sorunlar hastanede kalış ve mortalite oranlarını belirgin olarak artırmaktadır (1-3).

Diyabette görülen artmış oksidatif stres ve reaktif oksijen türlerinin (ROT) aşırı artışı istenmeyen klinik sonuçların oluşmasına neden olmaktadır (6-8). Diyabetik hastalarda ROT oluşmasında çeşitli mekanizmalar sorumlu tutulmaktadır. Diyabetiklerde ROT oluşumundaki temel yolak glukoz içeren hücresel elemanların oto-oksidasyonu ve non-enzimatik glukozilasyondur. Buna ek olarak diyabette antioksidan savunma sisteminin elemanlarında önemli değişiklikler oluşmakta bu da savunma sisteminin zayıflamasına neden olmaktadır (9).

In vitro ve in vivo çalışmalarda diyabetik komplikasyonların oluşmasında lipid peroksidasyonunun önemi ortaya konulmuştur. Komplikasyonların önlenmesinde lipid peroksidasyonunun kontrolü son derece önemlidir. Bu süreçte çeşitli endojen ve egzojen antioksidan sistemler peroksidasyonun kontrolünde rol oynamaktadır (10-15).

Sitokrom a ve c ile nitrat, moleküler oksijen gibi lipid peroksidasyonunda önemli rol oynayan elemanların fonksiyonlarını önlemede askorbik asit önemli bir fonksiyona sahiptir. C vitamini suda çözünür bir yapıya sahiptir ve su içeren ortamlarda serbest radikallerle reaksiyona girerek toksik etkileri azaltmaktadır (16).

Çeşitli çalışmalarda diyabetik hastalarda sağlıklı bireylere göre bazal C vitamini düzeylerinin daha az olduğu gösterilmiştir (17).

Propofol (2,6-diisopropylphenol) anestezide ve yoğun bakımlarda yaygın olarak kullanılan intravenöz bir anestezik ve potent bir sedatif ajandır (18). Propofolün kalp, akciğer, karaciğer ve testis gibi çeşitli organlarda oksidatif hasarı düzelttiği gösterilmiştir (19-23).

Bu çalışmada literatürde ilk defa olarak diyabetik sıçanlarda propofol ve C vitaminin böbrek ve karaciğer dokusundaki oksidan ve antioksidan sistemlere etkisi araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hayvanlar ve Çalışma Düzeni

Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Deneysel Hayvan Çalışmaları Etik Kurulu izni alındıktan sonra Kırıkkale Üniversitesi Fizyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın tüm aşamaları laboratuvar hayvanları araştırmalarında uyulması gereken etik kurallara uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 28 Wistar Albino sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar 20-21^{o}C sıcaklıkta 12 saat gece 12 saat gündüz olacak şekilde gün ışığı düzenlemesi yapılmış ve anestezi prosedüründen 2 saat öncesine kadar serbest olarak yemlere ulaşabilmeleri sağlanmıştır. Hayvanlar her grupta 7 hayvan olacak şekilde randomize olarak 4 gruba ayrılmıştır.

Diyabet oluşumu için tek doz intraperitoneal streptozotosin (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) 60 mg/kg dozda kullanılmıştır. Enjeksiyondan 72 saat sonra kan glukoz düzeyleri ölçülmüştür. Açlık plazma glukoz düzeyi >250 mg/dl olan sıçanlar diyabetik olarak tanımlanmış, diyabetik gruplara sadece bu hayvanlar alınmıştır. Streptozotosin enjeksiyonundan sonra 4 hafta boyunca hayvanların sağ kalmaları sağlanarak kronik diyabet oluşturulmuştur (24).

Çalışmada kullanılan 28 Wistar Albino sıçan randomize olarak 4 gruba ayrıldı. Kontrol (K, n=7) grubuna sadece intraperitoneal salin verildi. Diyabet oluşturulan 3 gruptaki hayvanlara ise tek bir doz streptozotosin verilerek (60 mg/kg) deneysel diyabet oluşturuldu. Diyabet-propofol grubu (DP, n=7) için hayvanlara intraperitoneal olarak 150 mg/kg propofol (Propofol %1 Fresenius 20 mL Fresenius SE & Co. KGaA Homburg, Germany) verildi. Diyabet-propofol ve C vitamini (DP+Vit C, n=7) verilen gruptaki hayvanlara 150 mg/kg propofol verilmeden 30 dakika önce intraperitoneal 100 mg/kg C vitamini (Ascorbic acid, *Redoxon*® 1000 mg/5 mL-*Roche*) verildi. Diyabetik Kontrol (DK, n=7) grubuna ise diyabet oluşturulduktan sonra sadece intraperitoneal salin verildi.

Bütün çalışma gruplarındaki sıçanlara intraperitoneal enjeksiyonu takip eden 30. dakikada 100 mg/kg ketamin anestezi amacı ile uygulandı. Göğüs ve abdominal bölgedeki tüyler traşlandıktan sonra hayvanlar supin pozisyonunda sabitlendi. Operasyon bölgesi %1 polivinil iyod ile yıkanıp kurulandıktan sonra steril örtü ile örtülerek median laparotomi uygulandı. Karaciğer ile böbrek dokuları alındı, işlem sonrası bütün sıçanlar sakrifiye edildi.

Karaciğer ve böbrek dokusunda anti-oksidan enzimler süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri ile malondialdehid konsantrasyonu ölçülmüştür.

Histopatolojik Değerlendirme

Kontrol ve deney gruplarındaki yapısal değişikliklerin değerlendirilmesinde Abdel-Wahhab ve ark. (25) uyguladığı yarı-kalitatif teknik kullanılmıştır. Doku hasarı yok (-), az miktarda doku hasarı (+), orta düzeyde hasar (++) ve ileri düzeyde doku hasarı (+++) şeklinde skorlama yapılmıştır.

Biyokimyasal Analizi

Karaciğer ve böbrek doku örnekleri kan kontaminasyonunu ortadan kaldırmak için soğuk su ile yıkanmış ardından homojenizatör (Heidolph Instruments GMBH&CO KGDiax 900 Germany®) yardımı ile homojenize edilmiştir. Doku hazırlanması sürecinde doku karıştırıcısı kullanılarak doku parçaları emülsifiye edilerek çok küçük parçalardan oluşan bir karışım oluşturulmuştur. Bu karışım 60 dakika süre ile 10.000 devir/dk da sentrifüj edildikten sonra üstte kalan katman inceleme için alınmıştır.

MDA düzeylerinin belirlenmesinde tiobarbitürik asit (TBA) ile MDA reaksiyonu kullanılmıştır (26). Bu işlemde MDA ve TBA asit pH da 532 nm de absorbsiyon sağlayan pembe pigment oluşumuna neden olurlar. Çeşitli standart solüsyonlar (1,1,3,3-tetraethoxypropane) ile karşılaştırılarak sonuçlar elde edilir. Sonuçlar nmol/mg.protein olarak ifade edilmiştir.

Elde edilen karışım lipid fraksiyonun eldesi için ethanol/kloroform karışımı (5/3 v/v) ile işleme tabi tutulur. Lipid fraksiyonlarında doku SOD, CAT ve GST aktiviteleri ölçülmektedir. 60 dakika 10.000 devir/dk santrifüj işleminden sonra üst katman alınarak analiz işlemi gerçekleştirilir.

Elde edilen bu katmanda doku SOD, CAT ve GST enzim aktiviteleri sırasıyla Durak ve ark. (27), Aebi ve ark. (28) ve Habig ve ark. (29) yöntemleri kullanılarak ölçülmüştür.

İstatistiksel Analiz

Tüm değişkenler ortalama± standart sapma ve standart hata olarak ifade edilmiştir. Gruplar arasındaki farklılıklar Kruskal–Wallis varyans anaylizi ile ardından da post-hoc Mann–Whitney *U*-testi ile değerlendirilmiştir. $P<0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Verilerin analizinde SPSS 20.0 (SPSS Inc. Chicago, Illionis) paket programı kullanılmıştır.

BULGULAR

Gruplar karaciğer dokusu MDA enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur (p=0.009). MDA enzim aktivitesi DK grubunda; K, DP ve DP+ Vit C gruplarına göre anlamlı yüksek olarak bulunmuştur (p=0.024, p=0.008, p=0.016,sırasıyla), (Tablo 1).

Karaciğer dokusu SOD enzim aktivitesi açısından değerlendirildiğinde, gruplar arasında anlamlı fark görülmüştür (p=0.037). SOD enzim aktivitesi DK grubunda K, ve DP+ Vit C gruplarına göre anlamlı derecede düşük olarak tespit edilmiştir (p=0.011, p=0.038, sırasıyla), (Tablo 1).

Gruplar karaciğer dokusu GST enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (p=0.047). GST enzim aktivitesi DK grubunda K grubuna göre anlamlı olarak daha düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir. (p=0.011), (Tablo 1).

Karaciğer dokusu CAT enzim düzeyi değerleri ise gruplar arasında benzer değerlerde bulunmuştur. Gruplar böbrek dokusu MDA enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenmiştir (p=0.002). MDA enzim aktivitesi DK grubunda K ve DP+Vit C gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p=0.010, p=0.016 sırasıyla), (Tablo 2).

Gruplar böbrek dokusu SOD enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmiştir (p=0.037). SOD enzim aktivitesi DK grubunda K, DP ve DP+ Vit C gruplarına göre anlamlı derecede düşük olarak tespit edilmiştir (p=0.009, p=0.028, p=0.019, sırasıyla), (Tablo 2).

Böbrek dokusu örneklemelerinde GST ve CAT enzim düzeyleri gruplar arasında benzer bulunmuştur.

Tablo 1. Rat karaciğer dokusunda oksidatif durum parametreleri [Mean ± SD]

	Grup K (n=7)	Grup DK (n=7)	Grup DP (n=7)	Grup DP+Vit C (n=7)	P**
MDA (nmol/ mg prot)	0,20±0,13*	0,52±0,30	0,30±0,09*	0,24±0,07*	0,009
SOD(IU/ mg protein)	5,49±1,97*	2,07±1,56	2,67±2,19	3,97±2,13*	0,037
GST (IU/ mg prot)	0,75±0,46*	2,19±1,60	1,35±0,62	1,24±0,89	0,047
CAT (IU/ mg prot)	5051,59±936,43	5519,65±1532,78	5124,54±1722,94	4325,41±891,46	0,585

P**: Kruskal Wallis testi ile anlamlılık düzeyi p< 0.05
*p<0.05: Grup DK ile karşılaştırıldığında

Tablo 2. Rat böbreğinde oksidatif durum parametreleri [Mean ± SD]

	Grup K (n=7)	Grup DK (n=7)	Grup DP (n=7)	Grup DP+Vit C (n=7)	P**
MDA (nmol/ mg prot)	0,50±0,14*	0,86±0,11	0,68±0,07	0,54±0,08*	0,002
SOD (IU/ mg protein)	3,60±1,25*	1,27±0,67	2,61±0,67*	3,02±1,37*	0,018
GST (IU/ mg prot)	0,41±0,18	0,58±0,52	0,37±0,05	0,36±0,09	0,885
CAT (IU/ mg prot)	2174,59±1616,97	3210,83±691,25	3047,49±488,45	2885,16±861,51	0,910

P**: Kruskal Wallis testi ile anlamlılık düzeyi p< 0.05
*p<0.05: Grup DK ile karşılaştırıldığında

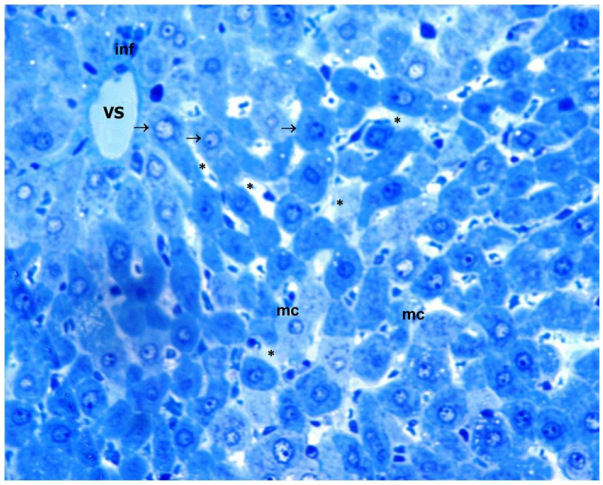
Histopatolojik Sonuçlar

Karaciğer: Işık mikroskopisi yardımı ile yapılan hepatosit dejenerasyon incelemelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmüştür (p<0.0001). Hepatosit dejenarasyonu DK grubunda, diğer gruplara oranla anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir (p<0.0001, p=0.002 ve p<0.0001), (Tablo 3, Şekil 1-4). Benzer şekilde nekroz yoğunluğu da gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulundu (p<0.0001). DK grubunda nekroz miktarı diğer üç gruptan anlamlı olarak fazla bulunurken (p<0.0001, p<0.0001 ve p<0.0001 sırasıyla), (Tablo 3, Şekil 1-4), parankimde mononükleer hücre infiltrasyon düzeyi de DK grubunda anlamlı olarak farklı bulunmuştur (p<0.0001). Diğer parametrelere benzer şekilde MN hücre infiltrasyonu DK grubunda diğer üç gruptakinden yüksek olarak belirlenmiştir (p<0.0001, p=0.037 ve p=0.003), (Tablo 3, Şekil 1-4). Benzer sonuçlar karaciğer doku sinüzoidal dilatasyon parametresinde de görülmüş (p<0.0001) ve DK grubunda K ve DP+C vitamini gruplarından istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturacak şekilde fazla bulunmuştur (p<0.0001, p=0.016), (Tablo 3, Şekil 1-4). DK grubunda karaciğer dokusundaki piknotik nükleus düzeyi K ve DP+ Vit C gruplarına göre daha yüksek olarak saptanmıştır (p<0.0001, p=0.015), (Tablo 3, Şekil 1-4).

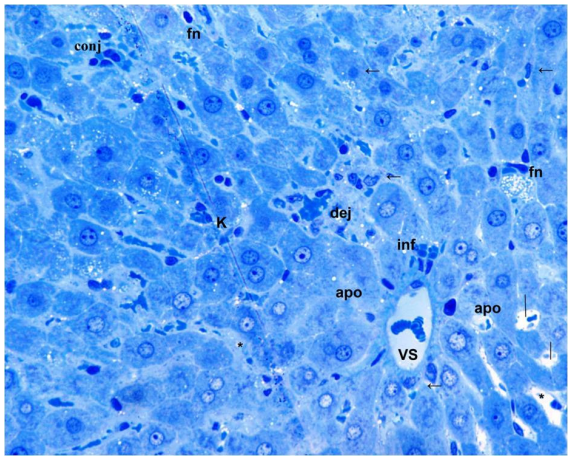
Tablo 3. Rat karaciğerinde histolojik değişikliklerin yarı-nitel değerlendirme yöntemiyle karşılaştırılması [Mean ± SEM]

	Grup K (n=7)	Grup DK (n=7)	Grup DP (n=7)	Grup DP+Vit C (n=7)	P**
Hepatosit dejenerasyonu	0,00±0,00*	2,57±0,20	1,57±0,20*	0,71±0,18*	<0,0001
Sinüzoidal dilatasyon	0,57±0,20*	2,00±0,22	1,57±0,20	1,00±0,28*	<0,0001
Piknotik çekirdek	0,00±0,00*	1,14±0,14	0,71±0,18	0,57±0,20*	<0,0001
Nekroza giden hücre	0,00±0,00*	2,29±0,18	0,86±0,14*	0,43±0,20*	<0,0001
Parankimde MN hücre infiltrasyonu	0,86±0,14*	2,29±0,29	1,43±0,20*	1,14±0,20*	<0,0001

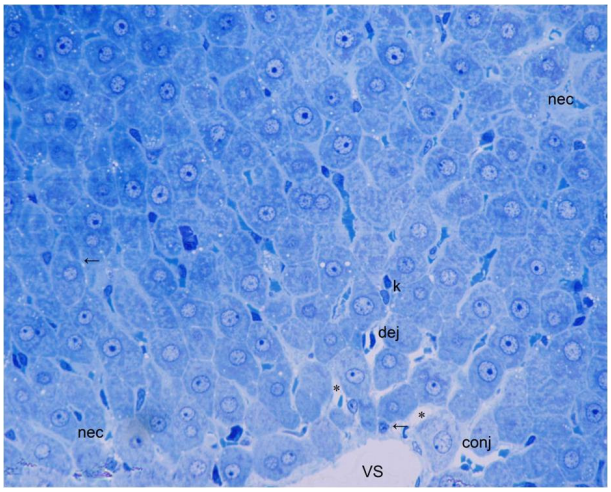
P**: Kruskal Wallis testi ile anlamlılık düzeyi p< 0.05
*p<0.05: Grup DK ile karşılaştırıldığında



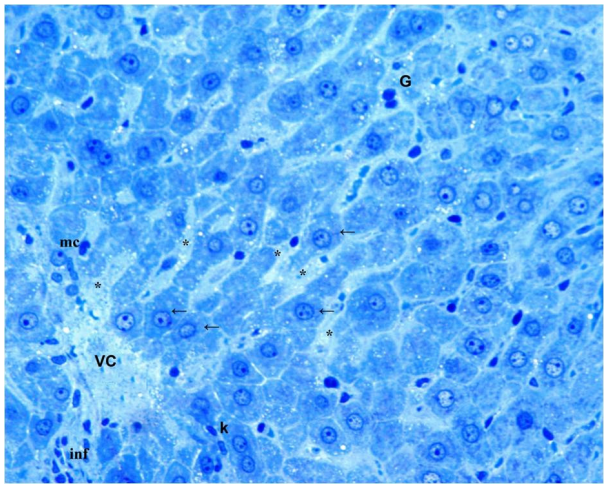
Şekil 1. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunun yarı ince kesiti. (vc: vena centralis ←:hepatositler *: yer yer dilate ışınsal yapıda sinusoidler. mc: minimal cellular değişiklikler, inf: nonspesifik iltihabi hücreler Toluidine blue.x20)



Şekil 2: DK grubuna ait karaciğer yarı ince doku kesitlerinde (dej) hepatosit ve vena centralis dejenerasyonu (sentrolober hasar), (*) sinusoid dilatasyonu, (←) piknotik ve hiperkromatik çekirdekler, fn: fokal nekroz alanları, inf: mononuclear hücre infiltrasyonu, conj:konjesyon, K: kuppfer hücre hiperplazisi, apo: vena centralis çevresinde apoptotic görünüm, (↑) vakuoler dejenerasyon (Toluidine blue.x20)



Şekil 3. DP grubuna ait karaciğer yarı ince doku kesitlerinde vena centralis (vs) çevresindeki hepatositlerde hidrofilik dejenerasyon (dej), conj: konjesyon, nekrotik ve apopitotik görünüm (nec), Kupffer hücre hiperplazisi (k), piknotik ve hiper kromatik çekirdekler (←), sinusoid dilatasyonu (*) Toluidine blue.x40)



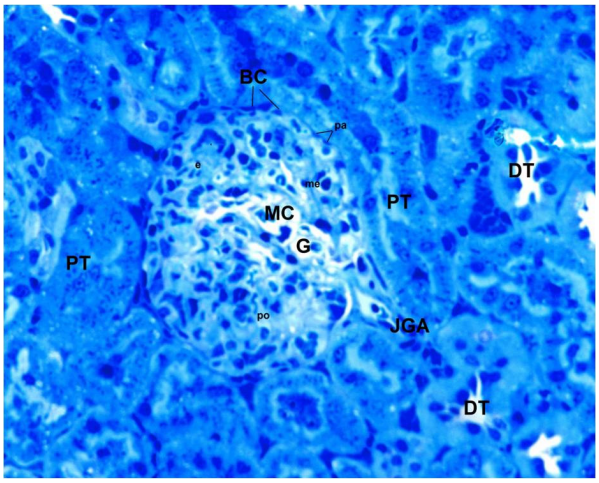
Şekil 4. DP + Vit C grubuna ait karaciğer dokusu (G: Granüller, inf: nonspesifik iltihabi hücreler vc: vena centralis ←:hepatositler *: dilate sinusoidler, k: Kupffer hücreleri, mc:minimal cellular değişiklikler, Toluidine blue.x20)

Renal: Işık mikroskopisinde Bowman kapsülündeki dilatasyon düzeyi gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur (p<0.0001). DK grubunda diğer üç gruba göre dilatasyon daha fazla görülmüştür (p<0.0001, p=0.013 ve p<0.0001), (Tablo 4, Şekil 5-8). Benzer şekilde intersisyel inflamatuvar infiltrasyon ve konjesyon düzeyi DK grubunda diğer üç gruptakinden yüksek olarak belirlenmiştir (p<0.0001, p<0.0001 ve p<0.0001), (Tablo 4, Şekil 5-8). Parankimde MN hücre infiltrasyonu DK grubunda diğer gruplardan yüksek olarak bulunmuştur (p<0.0001, p=0.037 ve p=0.003), (Tablo 4, Şekil 5-8). Renal dokuda fokal glomerüler nekroz düzeyi DK grubunda K ve DP+Vit C gruplarına göre daha yüksek olarak tespit edilmiştir (p<0.0001, p<0.0001), (Tablo 4, Şekil 5-8). Renal tübüler epitel dejenerasyonu DK grubunda K ve DP+ Vit C gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur (p<0.0001, p<0.0001), (Tablo 4, Şekil 5-8). Benzer sonuç tübüler epitel nekrozu için elde edilmiş ve DK grubunda yine K ve DP+ Vit C gruplarından yüksek nekroz düzeyi tespit edilmiştir (p<0.0001, p<0.0001), (Tablo 4, Şekil 5-8). Yine DK grubundaki renal tübüler dilatasyon düzeylerinin K ve DP+ Vit C grubundakilerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0.0001, p=0.002), (Tablo 4, Şekil 5-8).

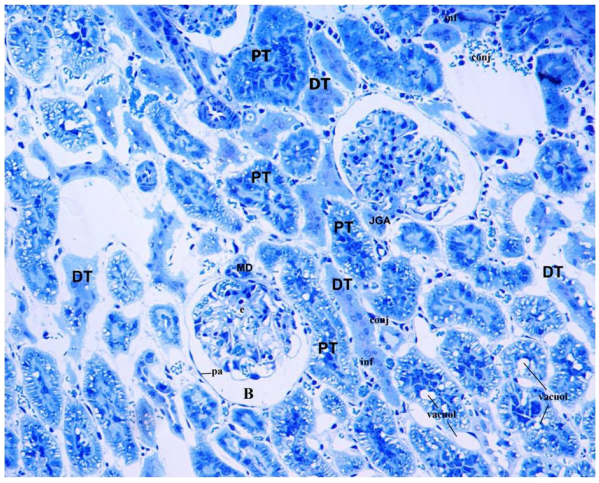
Tablo 4. Rat böbreğinde histolojik değişikliklerin yarı-nitel değerlendirme yöntemiyle karşılaştırılması [Mean ± SEM]

	Grup K (n=7)	Grup DK (n=7)	Grup DP (n=7)	Grup DP + Vit C (n=7)	P**
Fokal glomerüler nekroz	0,00±0,00*	2,57±0,20	2,00±0,22	0,57±0,20*	<0,0001
Bowman kapsül dilatasyonu	0,57±0,20*	2,57±0,30	1,57±0,20*	0,43±0,20*	<0,0001
Tübüler epitelyal dejenerasyon	0,43±0,20*	2,00±0,00	1,57±0,20	0,71±0,18*	<0,0001
Tübüler epitelyal nekroz	0,00±0,00*	1,71±0,18	1,14±0,14	0,57±0,20*	<0,0001
Tübüler dilatasyon,	0,57±0,20*	2,14±0,14	1,71±0,18	1,14±0,14*	<0,0001
İntertisyal inflamatuvar infiltrasyon ve konjesyon	0,00±0,00*	2,00±0,00	1,00±0,22*	0,00±0,00*	<0,0001

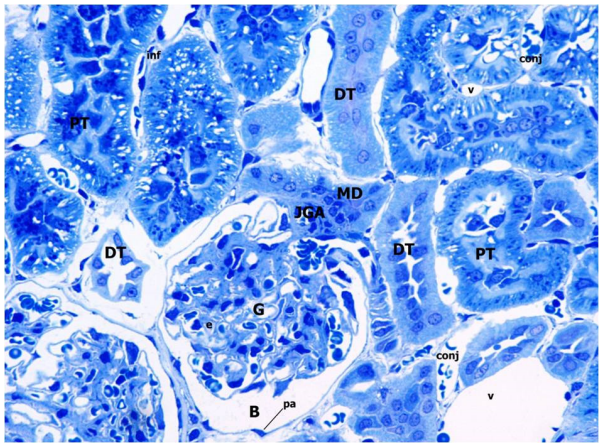
P**: Kruskal Wallis testi ile anlamlılık düzeyi p< 0.05
*p<0.05: Grup DK ile karşılaştırıldığında



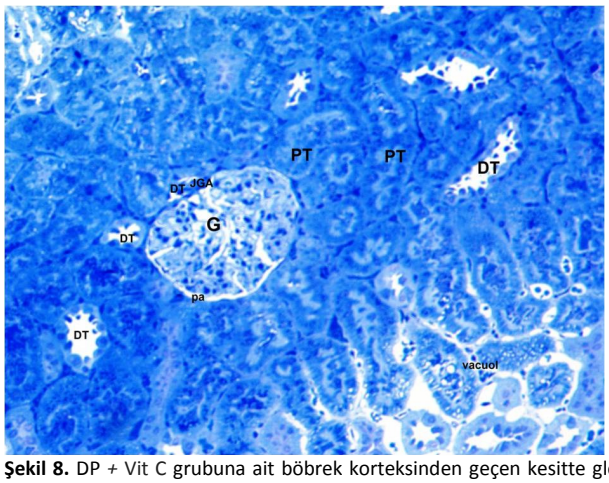
Şekil 5. Kontrol grubuna ait böbrek korteksinden geçen kesitte glomerul, proksimal ve distal tubuluslar görülmektedir G, MC: Glomerul, Malpighi cisimciği, PT: proksimal tubulus, DT:distal tubulus, BC, Bowman kapsülü, pa:Bowman kapsulü parietal yaprağı, po:podosit hücresi çekirdeği, e:endotel, me:mesengial hücre, JGA:juxta glomerular apparatus. (Toluidine blue.x40)



Şekil 6. DK grubundan alınan yarı ince kesitte Malpighi cisimciği, proksimal ve distal tubuluslar görülmektedir. PT:proksimal tubulus, DT:distal tubulus, B: Bowman aralığı, pa:parietal yaprak yassı epiteli, e:endotel, juxta glomerular apparatusu oluşturan MD:macula densa, JGA:juxtaglomerular hücreler, conj:conjesyon, inf:inflamasyon, vacuol:yaygın proksimal tubulus vakuolizasyonu (vakuol sayı ve big artmış). (Toluidine blue.x40)



Şekil 7. DP grubundan alınan yarı incekesitte Malpighi cisimciği, proksimal ve distal tubulusları gösteren böbrek korteksi. G:glomerul, PT:proksimal tubulus, DT:distal tubulus, B: Bowman aralığı, e: endotel, pa:parietal yaprak yassı epiteli c:conjesyon, inf:inflamasyon, vacuol (v):fokal proksimal tubulus vakuolizasyonu (Toluidine blue.x40)



Şekil 8. DP + Vit C grubuna ait böbrek korteksinden geçen kesitte glomerul, proksimal ve distal tubuluslar görülmektedir G:Glomerul, PT:proksima ltubulus, DT:distal tubulus, pa:kalınlaşmış Bowman kapsulü parietal yaprağı, JGA: juxta glomerular apparatus, vacuol: tubuler vacuolizasyon (Toluidine blue.x40)

TARTIŞMA

Anestezik maddelerin, inflamasyon, oksidatif stres ve serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı dokuların korunmasında oynadıkları roller, son yıllarda ilgi çekici bir konu olmuştur. Elde edilen sonuçların farklı oluşu bu çalışmaların ve ilginin devam edeceğini düşündürmektedir.

Organizmada serbest radikalleri yok etmek ve bunların neden oldukları hasarları azaltmak için pek çok savunma mekanizması vardır. Bunlardan bazıları SOD, CAT, glutasyon peroksidaz (GSH-Px), vitamin A, β-karoten, tokoferoller (vitamin E), askorbik asit (vitamin C) ve ürik asit gibi antioksidanlardır (30,31). Oksidatif stres, vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır (32).

İnsanlarda ve farklı hayvan türleri üzerinde yapılan çalışmalarda propofolün oksidatif stres üzerine etkisinin olduğu bildirilmiştir (32-35).

Oksidatif stresin neden olduğu lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde, MDA yaygın olarak kullanılan bir parametredir. İnsanlarda (33) ve hayvanlarda (36) yapılan çalışmalarda, anestezi amacı ile kullanılan propofolün eritrositlerdeki antioksidan kapasiteyi artırdığı ve plazma MDA düzeyini düşürdüğü belirtilmiştir.

Ansley ve ark. (33) insanlarda, uygulanan propofol dozu ile antioksidan kapasitenin ilişkili olduğunu ve yüksek dozda propofol uygulanması ile MDA düzeyinin daha çok azalacağını ifade etmişlerdir.

Antioksidan enzimlerden olan SOD, hücre hasarına neden olan süperoksidin hidrojen peroksit ve oksijene dönüşümünü katalizler. Katalazın ise peroksidaz aktivitesi vardır ve hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalar (30,31). Domuzlar üzerinde yapılan bir çalışmada propofol uygulaması ile plazma SOD aktivitesinde herhangi bir değişme olmadığı bildirilmiştir (36). Günaydın ve Çelebi (37) de propofolün eritrosit SOD ve CAT aktivitelerini etkilemediğini belirtmişlerdir.

Biz de çalışmamızda anestezi amacı ile kullanılan propofolün diyabetik ratlarda antioksidan kapasiteyi arttırdığı ve plazma MDA düzeyini düşürdüğünü, SOD ve CAT aktivitelerini etkilemediğini tespit ettik.

Diyabetin neden olduğu oksidatif stres hayvan ve insan dokularında etkili olarak diyabetik komplikasyonların gelişimine olanak sağlamaktadır (38,39). Diyabette görülen oksidatif stresin kaynağında glukozun ROS tarafından oto-oksidasyona uğraması ve antioksidan enzim sistemlerindeki bozulmaların yer alabileceği düşünülmektedir (39,40). Yüksek serbest radikal düzeyleri ve antioksidan mekanizmalarda süregiden bir azalma olması hücresel organellerin ve enzimlerin hasarlanmasına neden olabilmektedir (41). Bunun yanında C vitamini ROT neden olduğu oksidatif süreçlerde önemli bir antioksidan olarak görev almaktadır (42).

Yapılan bir grup çalışmada, diyabetik hastaların bazal C vitamini düzeylerinin azaldığı ve oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir (43-45). Ness ve arkadaşları ise C vitamininin insanlardaki lipidler üzerine yararlı etkileri olduğunu göstermişlerdir (46).

Yüksek MDA düzeyleri ile ölçülen oksidatif hasar ve düşük C vitamini düzeylerini de içeren azalmış antioksidan faktörler, bozulmuş lipid profili diyabette görülen komplikasyonların gelişimine neden olabilmektedir. Bu nedenle komplikasyonlara neden olan oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun düzeltilmesinde C vitamini takviyesi uygun bir seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır.

Bayram ve ark'ları (47) çalışmalarında, propofol uygulanan sıçanların karaciğer doku kesitlerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hepatositlerde granüler dejenerasyon, nekroza giden hücre grupları, vasküler konjesyon, hepatositlerde piknotik çekirdek, parankimde, perivasküler ve portal alanda mononüklear hücre infiltrasyonları ve safra kanalı proliferasyonu şeklinde gözlendiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda oksidatif stres belirteçleri olan MDA, SOD, GST ve CAT düzeyleri ile karaciğer histopatolojisinde hepatosit dejenerasyonu, sinüzoidal dilatasyon, nükleer piknoz, hücresel piknoz, mononükleer infiltrasyon gibi parametreler araştırılmış ve DP ve DP+ Vit C gruplarında DK grubuna göre tüm bu parametrelerin düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir.

SONUÇ

Diyabette lipid peroksidasyonu artmakta ve antioksidan aktivite azalmaktadır. Bununla birlikte C vitamini uygulaması bu durumdaki lipid peroksidasyonunu azaltırken antioksidan aktiviteyi de artırmaktadır. Çalışmamızın sonuçlarının diğer deneysel çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Robertshaw HJ, Hall GM. Diabetes mellitus: anaesthetic management. Anaesthesia 2006; 61: 1187–90.
2. McAnulty GR, Robertshaw HJ, Hall GM. Anaesthetic management of patients with diabetes mellitus. Br J Anesth 2000; 85: 80–90.
3. McAnulty GR, Hall GM. Anaesthesia for the diabetic patient. Br J Anesth 2003; 88: 428–30.
4. Gu W, Pagel PS, Warltier DC, Kersten JR. Modifying cardiovascular risks in diabetes mellitus. Anesthesiology 2003; 98: 774–9.
5. Kadoi Y. Anesthetic considerations in diabetic patients. Part I: preoperative considerations of patients with diabetes mellitus. J Anesth 2010; 24: 739-47.
6. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. Diabetes 1991; 40: 405–412.
7. Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. Diabetes 1999; 48:1–9.
8. Ceriello A. Oxidative stress and glycemic regulation. Metabolism 2000; 49:27–29.
9. Ramakrishna V, Jailkhani R. Evaluation of oxidative stress in Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM) patients. Diagn Pathol 2007; 2: 22.
10. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. Endocrine Reviews 2004; 25: 612–28.
11. Memisogullari R, Taysi S, Bakan E, Capoglu I. Antioxidant status and lipid peroxidation in Type II Diabetes Mellitus. Cell Biochem Func 2003; 21: 291-6.

12. Sacks DB. Diabetes Mellitus. In: Burtis CA, Ashwood ER, (Ed). Tietz Texbook of clinical chemistry. Philadelphia: WB Saunders Co: 1999; p 766-76.
13. Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci C. Potential markers of oxidative stress in stroke. Free Radic Biol Med 2005; 39: 841–52.
14. Memişoğulları R, Bakan E. Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. J Diabetes Complications 2004; 18: 193–7.
15. Masella R, Benedetto RD, Varý R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathionerelated enzymes. J Nutr Biochem 2005; 16: 577–86.
16. Memişoğulları R. The role of free radicals and the effect of antıoxidants in diabetes. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi 2005; 3: 30-9.
17. Will JC, Byers T. Does diabetes mellitus increase the requirement for vitamin C? Nutr Rev 1996; 54: 193–202.
18. Hutchens MP, Memtsoudis S, Sadovnikoff N. Propofol for sedation in neuro-intensive care. Neurocrit Care 2006; 4: 54-62.
19. Tsai YC, Huang CC, Chu, LM, Liu YC. Differential influence of propofol on different cell types in terms of the expression of various oxidative stress-related enzymes in an ex- perimental endotoxemia model. Acta Anaesthesiologica Taiwanica 2012; 50 : 159–166.
20. Ma L, Wu XY, Zhang LH et al., Propofol exerts anti- inflammatory effects in rats with lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibition of CD14 and TLR4 expression. Braz J Med Biol Res 2013; 46: 299–305.
21. Qin X, Sun ZQ, Zhang XW, Dai XJ, Mao SS, Zhang YM. TLR4 signaling is involved in the protective effect of propofol in BV2 microglia against OGD/reoxygenation. J Physiol Biochem J 2013; 37: 203- 7.
22. Wang H, Xue Z, Wang Q, Feng X, Shen Z. Propofol protects hepatic l02 cells from hydrogen peroxide-induced apoptosis via activation of extracellular signal-regulatedkinases pathway. Anesth Analg 2008; 107534–540.
23. Unsal A, Devrim E, Guven C, et al. Propofol attenuates reperfusion injury after testicular torsion and detorsion. World J Urol 2004; 22: 461–465.
24. Türeci E, Is M, Uzüm G, Akyüz F, Ulu MO, Dösoglu M, et al. Alterations in blood-brain barrier after traumatic brain injury in streptozotocin-ınduced diabetic rats. J Nervous Sys Surgery 2009;2:79-86.
25. Abdel-Wahhab MA, Nada SA, Arbid MS. Ochratoxicosis: Prevention of developmental toxicity by L-methionine in rats. J Appl Toxicol 1999; 19: 7.
26. Van Ye TM, Roza AM, Pieper GM, Henderson J Jr, Johnson JP, Adams MB. Inhibition of intestinal lipid peroxidation does not minimize morphological damage. J Surg Res 1993; 55:553.
27. Durak I, Canbolat O, Kavutcu M, Öztürk HS, Yurtarslanı Z. Activities of total, cytoplasmic and mihochondrial superoxide dismutase enzymes in sera and pleural fluids from patient with lung cancer. J Clin Lab Anal 1996; 10: 17.
28. Aebi H. Catalase. In: H.U.Bergmeyer (Ed): Methods of Enzymatic Analysis, Academic Press , New York and London, 1974; pp.673-677.
29. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. J Biol Chem 1974;249:7130.
30. Pekcan Z, Çınar M, Gürkan M, Kumandaş A. The Effects of Propofol and Isoflurane Anaesthesia on Oxidative Stress in Angora Goats. Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg 2011; 6: 217-222
31. N Öz, F Kurtoğlu. Serbest radikaller ile antioksidan sistemler ve hastalıklarla ilişkileri. Veterinarium 2002; 13: 21-31.
32. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. Yüzüncü Yıl Üniv Vet Fak Derg 2004; 15: 91-96.
33. Ansley DM, Sun J, Visser WA, Dolman J, Godin DV, Garnett ME, Qayumi AK,. High dose propofol enhances red cell antioxidant capasity during CPB in humans. Can J Anesth 1999; 46: 641-648.
34. Yamaguchi S, Hamaguchi S, Mishio M, Okuda Y, Kitajima T. Propofol prevents lipid peroxidation following transient forebrain ischemia in gerbils. Can J Anesth 2000; 47: 1025-1030.
35. Kudo M, Aono M, Lee Y, Massey G, Pearlstein RD, Warner DS. Absence of direct antioxidant effects from volatile anesthetics in primary mixed neuronal-glial cultures. Anesthesiology 2001; 94: 303-312.
36. Allaouchiche B, Debon R, Goudable J, Chassard D, Duflo F. Oxidative stres status during exposure to propofol, sevoflorane and desflurane. Anesth. Analg 2001; 93: 981-985.
37. Günaydın B, Çelebi H. Genel anesteziklerin serbest radikaller ve antioksidanlarla ilişkisi. Anestezi Dergisi 2003; 11: 87-98.
38. Armsrong D, Abdella N, Salman A, Miller N, Rehama EAJ. Relationship of lipid perioxidation and Diabetes conplications. Journal of diabetic complications 1992; 3: 116-122.
39. Kowluru RA, Engerman RL, Kern TS. Diabetes-induced Metabolic Abnormalities in Myocarduim; Effects of Antioxidant Therapy. Free Radical Research 2000; 35: 67-74.
40. Kern TS, Kowluru R, Engerman RC. Abnormalities of retina Metabolism in Diabetes or Galactoseamia: A.T Pases in Glutathione. Investigative Opthamology 1994; 35: 2962-2967.
41. Gwarzo MY, Nwachuku VA, Lateef AO. Prevention of Alloxan induced Diabetes in rats by Vitamin A supplementation. Asian journal of Animal Science 2010; 4: 190-196.
42. Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH, et al. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. J Am Coll Nutr 2003; 22: 18-35.
43. Mohammad Afkhami-Ardekani & Ahmad Shojaoddiny-Ardekani. Effect of vitamin C on blood glucose, serum lipids & serum insulin in type 2 diabetes patients. Indian J Med Res 2007; 126 : 471-474.
44. Evans M, Anderson RA, Smith JC, Khan N, Graham JM, Thomas AW, et al. Effects of insulin lispro and chronic vitamin C therapy on postprandial lipaemia, oxidative stress and endothelial function in patients with type 2 diabetes mellitus. Eur J Clin Invest 2003; 33 : 231-8.
45. Tousoulis D, Antoniades C, Tountas C, Bosinkou E, Kotsopoulou M, Toutouzas P, et al. Vitamin C affects thrombosis/fibrinolysis system and reactive hyperemia patients with type 2 diabetes and coronary artery diseases. Diabetes Care 2003; 26 : 2749-53.
46. Ness AR, Khaw KT, Bingham S, Day NE. Vitamin C status and serum lipids. Eur J Clin Nutr 1996; 50 : 724-9.
47. Bayram D, Öncül M, Özçelik N, Yılmaz HR, Uz E, Gökçimen A, Özgöçmen M. The effects of thiopenthone sodium and propofol on rat liver. SDÜ Sağlık Bilimleri Dergisi 2014; 5: 36-44 .